

Celice NRK-EGFP2-Nup50 | 500726**Splošne informacije****Description**

Celična linija NRK-EGFP2-Nup50 je stabilna klonska celična linija, pridobljena iz celic normalnih ledvic podgan (NRK). Ta celična linija je bila ustvarjena s transfekcijo krožnega plazmida, ki vsebuje gen, ki kodira fuzijski protein izboljšanega zelenega fluorescenčnega proteina (EGFP) in nukleoparina 50 (Nup50), čemur je sledila selekcija odpornosti na zdravila. Tako približno 50 % celic izraža fuzijski protein EGFP3-Nup50, kar omogoča vizualizacijo in sledenje Nup50 v celičnem okolju.

Nup50 je ključna sestavina kompleksa jedrskih por, ki je odgovoren za uravnavanje prenosa molekul med jedrom in citoplazmo. Oznaka EGFP3 omogoča slikanje živih celic in druge tehnike, ki temeljijo na fluorescenci, za preučevanje lokalizacije, dinamike in interakcij Nup50. Kljub temu da gre za stabilno celično linijo, celice NRK-EGFP2-Nup50 kažejo določeno variabilnost, kar kaže na različno raven izražanja fuzijskega proteina EGFP3-Nup50 med celicami.

Ta celična linija je še posebej dragocena za raziskave, usmerjene v nukleocitoplazemski transport, dinamiko kompleksa jedrskih por in funkcionalno vlogo Nup50 v različnih celičnih procesih. Celice NRK-EGFP2-Nup50 so primerne za vrsto eksperimentalnih pristopov, vključno z obnovitvijo fluorescence po fotobeljenju (FRAP), fluorescenčno korelacijsko spektroskopijo (FCS) in drugimi naprednimi mikroskopskimi tehnikami. Te študije lahko omogočijo vpogled v molekularne mehanizme jedrskega transporta in prispevajo k razumevanju bolezni, povezanih z motnjami v delovanju jedrskega transporta, kot so nekateri raki in nevrodegenerativne motnje.

Organism Podgana**Tissue** Ledvice**Synonyms** NRK EGFP2-Nup50**Značilnosti****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastom podobne celice s fusiformno obliko**Growth properties** Enoslojni, adherentni**Regulativni podatki****Citation** NRK-EGFP2-Nup50 (kataloška številka Cytion 500726)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116

Celice NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

CellosaurusAccession CVCL_AV93

Depositor Laboratorij Ellenberg (EMBL)

Biomolekularni podatki

Receptors expressed Epidermalni rastni dejavnik (EGF), aktivnost, ki spodbuja razmnoževanje (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (nukleoporin 50)

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišču dodajte 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Zavrzite staro gojišče in celice sperite s PBS. Dodajte sveže pripravljeno 0,025 % raztopino tripsina/0,02 % EDTA, segreto na 37 stopinj Celzija, in počakajte, da se celice ločijo, kar običajno traja približno 5 minut. Tripsin nevtralizirajte z dodajanjem svežega gojišča, nato celično mešanico prenesite v epruveto in centrifugirajte. Po centrifugiranju odstranite supernatant, ponovno suspendirajte celično pelet v svežem gojišču in suspenzijo prenesite v nove bučke. G418 dodajte v gojišče, da dosežete končno koncentracijo 0,5 mg/ml**Split ratio** Priporoča se razmerje od 1:3 do 1:4**Seeding density** 2 do 4 x 10⁴ celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.